

Szegedi Orvostudományi Egyetem Orvosi Biológiai Intézet és Szegedi
Orvostudományi Egyetem Számítástechnikai Központ

Fázis- és állapotsík módszer alkalmazása az idegi akciós potenciál dinamikájának és membránáram komponenseinek meghatározására

Török Attila és Eller József

Bernstein (1902) kísérletei óta tudjuk, hogy az idegsejt membránjának két oldala között, az intra-, ill. extracelluláris térben jelentővő egyenlőtlen ion-koncentráció miatt elektromos feszültség van, melyet nyugalmi potenciálnak nevezünk. Ez az időben állandónak tekinthető feszültség az ideg ingerülete alatt egy jellegzetes hullámzást mutat. Ez az akciós potenciál az ingerület folyamán lezajló változások legmarkánsabb jellemzője. Hodgkin és Huxley (1939) kimutatták, hogy ez a membrán elektromos vezetőképességében bekövetkező reverzibilis változások következménye.

Hodgkin, Huxley és Katz (1952) matematikai formába öntötték az akciós potenciállal egyidejűleg mérhető ingerületi áram kinetikáját. Ennek értelmében az ingerületi áram két komponensből áll, nevezetesen a kapacitív és az ionos tagból:

$$I(t) = C \frac{dU(t)}{dt} + I_i(t) \quad /1/$$

ahol C a membrán kapacitása, $U(t)$ az akciós potenciál időbeli alakulása, $I_i(t)$ az $I(t)$ teljes membránáram ionos komponense. Cole (1968) és más szerzők szerint, a C értéke az ingerület alatt is állandónak tekinthető.

Méréseinket az éti csiga garat alatti idegducának óriás neuronjain végeztük. Kiegyenlített egyenáramu Wheatstone-hid alkalmazásával szinkron regisztráltuk az $U(t)$ akciós potenciál és az $I(t)$ membránáram időbeli változásait. Ezeket az időfüggvényeket 25 sec-os mintavételezési idővel digitalizáltuk, és nyolc-csatornás lyukszalagon bináris formában tároltuk a további számítástechnikai feldolgozás céljára (Török, Máté, Szekeres, Bohus, Fodor: 1972.).

A C membránkapacitást a

$$\tau_m = R_m \cdot C \quad /2/$$

összefüggésből számítottuk ki hallgató, ill. autoaktív neuronokon alkalmazott hypo- és hyperpolarizáció során mért τ_m és R_m értékekből. Az U_{ny} nyugalmi potenciált 0-szintnek véve, az idegsejt membránjának feszültségét ugrásfüggvényyszerűen U_o potenciálra hypopolarizáltuk. Elégségesen hosszú ideig alkalmazva a hypopolarizációt, az ingeráram $|I_m|$ is gyakorlatilag konstansnak $|I_o|$ vehető. A membrán ekkor ismét steadystate állapotban van és az R_m nyugalmi ellenállást Ohm törvényéből számíthatjuk:

$$R_m = \frac{U_o}{I_o}, \quad /3/$$

Ennek megfelelően:

$$C = \frac{\tau_m I_o}{U_o} \quad /4/$$

adódik.

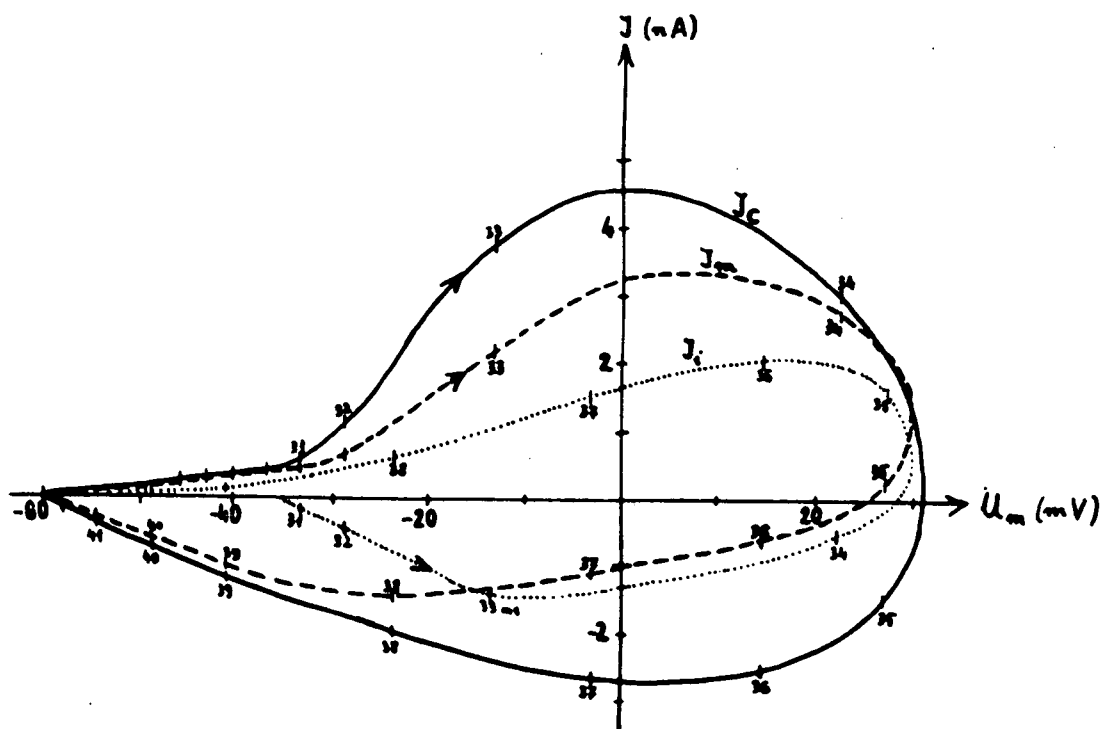
Az 1. ábrán bemutatott regisztrátumról a 4. egyenlet jobboldalán szereplő értékek leolvashatók. A τ_m adódik az

$$U_m(t) = U_o \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_m}}\right) \quad /5/$$

összefüggésből $t = \tau_m$ esetén (1. ábra felső kép, felszálló szaggatott vonal).

$$U_m(\tau_m) = U_o \left(1 - \frac{1}{e}\right) \sim 0,63 \cdot U_o \quad /6/$$

Azaz τ_m az az idő, mely U_o nagyságú ugrásfeszültség alkalmazása esetén a hypopolarizálás kezdetétől számítva eltelik addig, amíg az U_m membránpotenciál érték az U_o 63 %-át eléri.



1. ábra

Idegsejtre ugrásfüggvényszerűen alkalmazott hypopolarizáció (folytonos vonal) hatására kialakult U_m membránpotenciál (szaggatott vonal), ill. I_m membránáram időbeli függése.

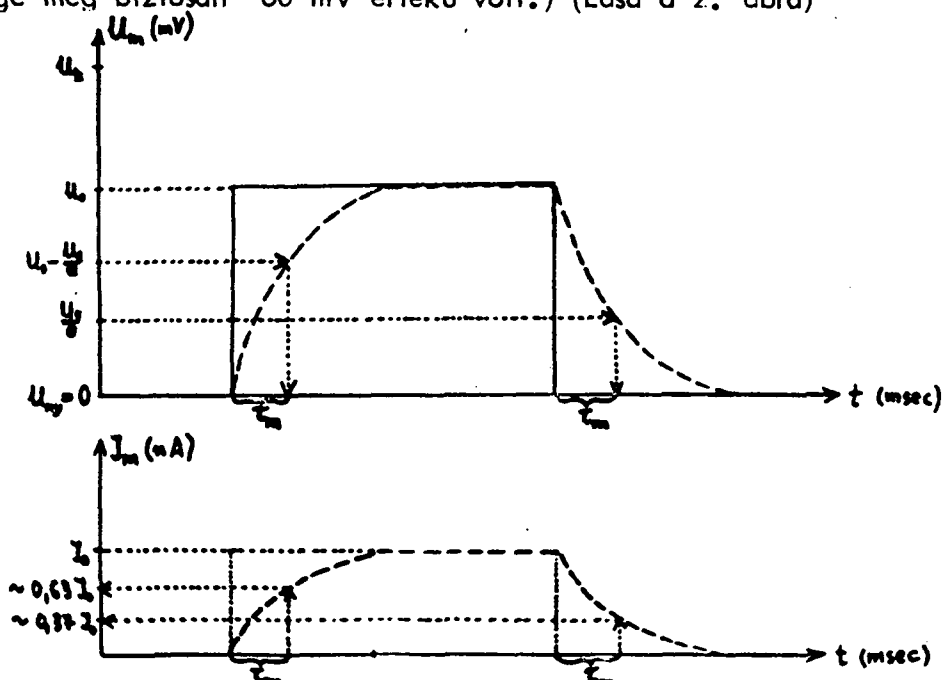
U_k küszöbpotenciál alatti hypopolarizáció esetén a membránellenállás nem mutat feszültségfüggést. Ugyanakkor hangsúlyozni kell, hogy a voltage-clamp technika, amellyel Hodgkin és munkatársai dolgoztak, ingerület esetén visszacsatolással lehetővé teszi konstans értéken tartott membránpotenciál alatti membránáramok mérését. Az e módszerrel nyert eredmények alapján - ha kissé fáradságos uton is - de sikerült elégséges módon leírni a membránáram ionos tag további komponenseinek (főleg a Na és K ionoknak) a kinetikáját.

Megítélésünk szerint nem hagyható figyelmen kívül az I kapacitív áram szerepe, továbbá szükséges az ingerlő (hypopolarizációs) és ingerületi (akciós) áram megkülönböztetése is. Az inger hatására kialakuló, tartósnak tűnő, feszültségfüggő membránellenállást indokolt passzívnak nevezni, mivel ez csak következménye a membránra kényszerített U_{ny} -tól

eltérő feszültségértéknek. Az ingerületi vezetőképesség-változást - amely szerepet játszik az akciós potenciál kialakulásában - aktiv folyamatnak tartjuk, mert ez az idegsejt reakciója az ingerre. Tehát a membránellenállás csökkenésének az ingerlő áram a kiváltója, míg az ingerületi áram a membrán aktiv vezetőképesség-növekedésének a következménye (Török: 1975.).

A kapacitiv áramtag, valamint az akciós áram tüzetesebb vizsgálatának érdekében spontán aktiv neuronokon végeztünk méréseket. $U_{ny} = -60$ mV nyugalmi potenciálról indul az akciós potenciál, és kb. -35 mV membránpotenciál értékig az $I_m = I_c$, ami azt jelenti,

hogy a mérés kezdetétől számított 30 msec-ig nem volt ionos áram. (Ez nem az akciós potenciál kezdetétől eltelt időt jelenti, ugyanis azt autoaktiv neuronok esetén nehéz meghatározni, hanem egy olyan tetszés szerinti időpontot választottunk 0-nak, amikor az idegsejt membránfeszültsége még biztosan -60 mV értékű volt.) (Lásd a 2. ábra)



2. ábra

Autoaktiv idegsejt ingerület alatti membránfeszültsége (U_m) és membránáram komponenseinek állapotsik trajektóriái. A görbéken lévő nyilak, ill. jelzések az időparaméter növekedésének irányát, ill. értékeit mutatják.

Tehát a kapacitív áramtag időben hamarabb lép fel, csúcser-tékét is előbb éri el, mint az ionos komponens, és általában erősebb is annál.

Jenerick (1963), Inoue (1971) és Carvalho (1975) izomrostra már alkalmazták a fázissík karakterisztika módszerét az ionos áramtag becslésére, mely az alábbi /7-9/ összefüggések alapján igen kézenfek-vőnek mutatkozott. A következőkben leírjuk az állapot- és a fázissík trajektóriákból levonható következtetéseket a membránáram komponense-inek dinamikájára vonatkozóan. Együttal megadjuk ezek elméleti alap-jait, és kísérletet teszünk másodrendű fáziskarakterisztika bevezetésére.

Az I_m akciós áramra ismeretesek az

$$I_m(t) = \frac{C}{k} \cdot U_m''(t) \quad /7/$$

$$I_m(t) = C \cdot U_m'(t) + \frac{U_m(t)}{R_m(t)} \quad /8/$$

$$I_m(t) = C \cdot U_m'(t) + I_i(t) \quad /9/$$

összefüggések, ahol $U_m'(t)$ a membrán potenciál időszerinti deriváltját jelenti, k pedig az idegsejt fizikai és geometriai adataiból számítható:

$$k = \frac{2 R_i \sqrt{C}}{r} .$$

A /7/ és /9/ összefüggésből adódó differenciálegyenlet:

$$\frac{C}{k} U'' = C \cdot U' + I_i \quad /10/$$

(A továbbiakban az $U_m(t) \equiv U$ jelölést alkalmazzuk, és az időtől való függést sem tüntetjük fel.)

Átrendezés után /10/-ből

$$I_i = C \cdot \frac{1}{k} \cdot U'' - U' \quad /11/$$

Mivel az (U, U') fázissík trajektória kezdeti szakasza egyenes, (lásd 2. ábra, ahol $I_c = C \cdot U'$) a /10/ differenciálegyenlet erre az intervallumra vonatkozó megoldása

$$U = A \cdot e^{kt} \quad /12/$$

azaz $U' = kU$, vagyis k -t meghatározhatjuk, mint a trajektória kezdeti szakaszának iránytangensét. További deriválással /11/-ből

$$I_i = 0 \quad /13/$$

adódik az ingerület kezdeti szakaszára nézve. Vagyis nincs ionos áram, amíg a fázistrajektória egyenes. Ez következik a 2. ábra alapján a /9/ összefüggésből is.

Viszont a /10/ átalakításával nyerjük a következőt:

$$\frac{I_i}{C} = \frac{1}{k} U'' - U' \quad /14/$$

Mivel a /14/ egyenletben C és U ismert, mód kínálkozik a lyukszalagok alapján végzett számítógépes deriválások után a másodrendű fázistrajektóriából meghatározni I_i dinamikáját.

Mi a /7/ és /9/ összefüggéseket használtuk fel az ionos áramtag meghatározására.

$$I_i = I_m - C \cdot U' \quad /15/$$

Megállapítható, hogy a kapacitív áram $U_m = 0$ közelében veszi fel maximumát, mely esetünkben közelítőleg kétszerese az ionos tag legnagyobb értékének. Ez $U_m \sim 20$ mV-nál következik be. Felhívjuk a figyelmet, hogy az I_c és az I_i ellentétes irányban "forog".

Irodalom

- (1) Bernstein, J.: Untersuchungen zur Thermodynamie der bioelektrischen Ströme Erster Teil. Pflüg. Arch. ges. Physiol. 92, 521.
- (2) Carvalho, A.P.: Phase-plane determination of membrane current in propagated actions potentials: Possibilities and difficulties. In: Concepts of Membranes in Regulation and Excitation (ed. by M.R.Silva and G.Suarez-Kurtz) Raven Press New York.
- (3) Cole, K.S.: Membranes, Jons and Impulses Univ. of California Press. Berkeley and Los Angeles.
- (4) Cole, K.S., Curtis, H.J.: Electrical impedance of the squid giant axon during activity. J.gen.Physiol. 22., 649.
- (5) Hodgkin, A.L., Huxley, A.F., Katz, B.: Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant exon of Loligo. J. Physiol (London) 116, 424.
- (6) Inoue, F.: Membrane ionic current of the propagated action potential of the nerve. Jap. J.Physiol 21, 601.
- (7) Jenerick, M.: An analysis of the striated muscle fibre action current Biophys. J. 4, 77.
- (8) Salánki J., Lábó E.: Izom- és idegsejtek elektrofiziológiai vizsgáló-módszerei. MTA Biol. Oszt.Közl. 8., 89.
- (9) Török A., Máté E., Szekeres L., Bohus M., Fodor Zs.: Eleml idegi folyamat matematikai analizise. Számítástechnikai és kibernetikai módszerek alkalmazása az orvostudományban és a biológiában. Kollokvium, Szeged, 1972.
- (10) Török A.: Receptor-neuron ingerületi folyamatának matematikai analizise. Kandidátusi értekezés. 1975.

